(Aus der Physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

Beiträge zur Arsenwirkung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Zahnheilkunde
der
hohen medizinischen Fakultät
der
Universität Basel

vorgelegt von

HANS LENZIN,
med. dent.
Liestal, Kanton Baselland.

Basel 1928
Buchdruckerei Benno Schwabe & Co.

(Aus der Physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

Beiträge zur Arsenwirkung

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Zahnheilkunde
der
hohen medizinischen Fakultät
der
Universität Basel

vorgelegt von

HANS LENZIN,
med. dent.
Liestal, Kanton Baselland.

Basel 1928
Buchdruckerei Benno Schwabe & Co.

Von der medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. K. Spiro.

Basel, den 23. April 1928.

Der Dekan: R. Rössle.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Beiträge zur Arsenwirkung.

Verbindungen des Arsens haben in der jüngsten Zeit eine außerordentlich häufige Verwendung als Arzneimittel gefunden, ist doch das Salvarsan der Typus einer synthetischen Verbindung, die eine so häufige Anwendung gefunden hat, daß wir es in unserm Arzneischatz nicht mehr missen wollen. Dabei ist die Frage, ob das Arsenik direkt auf die Krankheitserreger, in diesem Falle auf die Spirochäten wirkt, oder auf den Wirtsorganismus selbst, in dem es ihn in den Abwehrmaßregeln gegen den Infektionsträger stärkt, noch strittig. Im Sinne der erstern Möglichkeit ist es von Interesse, die Wirksamkeit des Arsenik am möglichst einfachen Modell zu studieren, um das Wesen seiner Wirkung festzustellen. Ein solcher Versuch findet ja auch darin seine weitere Begründung, daß ja das Arsenik auch vielfach eine äußerliche Anwendung in der Zahnheilkunde erfährt, indem es zur Abtötung protoplasmatischer Gebilde im Zahn benutzt wird, gewissermaßen ein Adstringens der Zahnpulpa darstellt. Ueber den dabei ablaufenden chemischen Prozeß weiß man, soweit uns die Literatur zur Verfügung stand, nichts. Wir haben infolge dessen die Frage einer systematischen Untersuchung unterzogen, und speziell durch chemische und histologische Methoden einen Einblick in das Wesen der Arsenwirkung am Zahn zu erhalten gesucht.

Zu diesem Zwecke war es zunächst einmal erwünscht, eine Bestimmungsmethode des Arsens zum Nachweis kleinster Mengen auszuarbeiten. Zwar existieren hiefür schon eine Reihe von Methoden, die in toxikologischem Interesse gemacht worden sind, und erst kürzlich hat E. Přibyl (Biochem. Zeitschr. 159, 1925) eine Methode zur Bestimmung von kleinen Arsenmengen in tierischen Organen angegeben, die eine Verbesserung der Rein'schen Methode darstellt. Sie besteht darin, daß das Arsen auf Kupferfolie niedergeschlagen und durch Vergleich mit Testproben, die in gleicher Weise aus Arsenlösungen von bekanntem Gehalt gewonnen werden,

verglichen wird. Ich habe versucht, das niedergeschlagene Arsen quantitativ zu erfassen mit Hilfe der später zu beschreibenden kolorimetrischen Methode, aber ohne Erfolg, da stets nach Ausflockung des Kupfers aus der Lösung noch Cu-ionen vorhanden waren, die bei der kolorimetrischen Bestimmung mit H_2S unter Bildung von braunem kolloidalem Kupfersulfid reagierten, dadurch den gelben Farbton des As_2S_3 und damit die darauf begründete quantitative Messung störten.

Ich habe aber von einer kolorimetrischen Methode Gebrauch gemacht, die Herr stud. med. B. Kamm vor zwei Jahren in unserm Institut ausgearbeitet hat, und über die er selbst in seiner Dissertation ausführlicher berichtet hat. Sie beruht auf der Fällung des Arsens als Arsensulfid. Dieses hat schon für sich die Neigung, kolloid in Lösung zu bleiben. Am leichtesten aber gelingt es durch Zufügung von etwas Gelatine eine stabile Lösung zu erhalten, deren gelber Ton bei genau definiertem Wasserstoffionen-Gehalt eine konstante Größe darstellt. Auch mir lieferte die Methode, nachdem ich mich in sie eingearbeitet hatte, gute Werte, wenn gleich es notwendig ist, daß man sich auf die Differenz des gelben Farbtons einstellt. Als ich zuerst mit Gummi arab. als Schutzkolloid arbeitete, erhielt ich meist Trübungen (Ausflockungen) anstatt klare Lösungen. Es ist klar, daß der Schatten, den diese feinsten Teilchen gaben, das Resultat in dem Sinne fälschten, daß eine zu hohe Konzentration vorgetäuscht wurde. Dies war hauptsächlich der Fall bei Anwesenheit eines Elektrolyten z. B. Na Cl, das praktisch überall vorkommt. Daß auch die Zeit bei dieser Reaktion eine Rolle spielte, erhellte daraus, daß nach steigenden Ablesungsintervallen, die Konzentration scheinbar zunahm, was auf eine Teilchenvergrößerung in Folge mangelhafter Schutzkolloidwirkung zurückzuführen ist. Bei Verwendung von 2% Gelatine konnte diese Fehlerquelle vermieden werden.

Einfluß von Arsen auf Eiweiß.

Zunächst fragten wir uns, ob Arsenik einen Einfluß auf Eiweiß hat, spez. ob es darauf koagulierend wirkt. Zur Klärung dieser Frage wurden Lösungen von Serum, Serum plus Essigsäure, Serum und Essigsäure und Fowler'sche Lösung (Kalium arsenicosum 1% As_2O_3) ca. 16 Stunden bei 40 Grad im Brutschrank stehen gelassen und durch refraktometrische Messungen des Zentrifugats ermittelt, ob durch den As-Zusatz die Eiweißfällung quantitativ verändert wird.

	Teilstrich am Refraktometer	Brechungsexponent
Probe 1. 1 ccm Ser. u. 1 H_2O u. 1 Essigsäure	33,58	1,34032
„ 2. 1 ccm Ser. u. 1 Fowler u. 1 Essigsäure . . .	39,7	1,342636
„ 3. 1 ccm H_2O u. 1 Fowler u. 1 Essigsäure . . .	25,63	1,337296
„ 4. 1 ccm Ser. u. 2 H_2O	29,3	1,338694
„ 5. 1 ccm Fowler u. 2 H_2O	21,75	1,335803

	n		n		n
Probe 2.	1,342636	Probe 3.	1,337296	Probe 1.	1,340320
„ 3.	1,337296	„ 5.	1,335803	△n Essig	0,001493
△n Eiweiß	0,005340	△n Essig	0,001493	b =	1,338827
H_2O =	1,333200				
a =	1,338540				

a = Brechungsexponent der Probe 2 nach Abzug der Brechungsanteile Fowlerlösung + Essigsäure.

b = Brechungsexponent der Probe 1 nach Abzug des Brechungsanteils von Essigsäure.

Der Wert von a entspricht 1,52% Eiweiß.

Der Wert von b entspricht 1,66% Eiweiß.

Die Differenz von 0,14% Eiweiß entsprechend 0,7 Skalenteilen des Refraktometers liegt außerhalb der Ablesefehler, aber nicht außerhalb der Fehler des ganzen Versuchs, was auch daraus zu ersehen ist, daß der Gehalt des nur mit H_2O verdünnten Serums mit n = 1,338694 = 1,57% Eiweiß beträgt.

Das Resultat ist, daß die Wirkung so gering ist, daß sie jedenfalls für die therapeutische Wirkung nicht in Betracht kommt. As^{III} wird durch Eiweiß auch nicht meßbar adsorbiert, wie aus folgendem Versuch hervorging:

Zu Blut wird arsenige Säure zugesetzt und dann das Eiweiß mit Trichloressigsäure ausgefällt. Aus dem enteiweißten Blut erhielt ich nachher das zugesetzte Arsen quantitativ wieder.

Da die Möglichkeit vorhanden ist, daß das Arsenik eventuell eine Einwirkung auf die Lipoide hat, wurde die Löslichkeit des Arseniks in Aether und Lipoiden untersucht: Eine erhebliche Löslichkeit für das Arsen besteht nicht.

Löslichkeitsverhältnis von Arsenik in Aether und Lecithin.

1. Festes As_2O_3 wurde mit 20 ccm Aether und 10 ccm H_2O im Schütteltrichter 5 Minuten geschüttelt und 12 Stunden stehen gelassen. Die Aetherschicht wurde abgetrennt und auf As untersucht:

5 ccm der Aetherlösung im Wasserbad verdampft, mit 1 ccm 2 n H Cl erhitzt und mit Gelatine und H_2S auf 10 ccm aufgefüllt: Keine Gelbfärbung.

Arsenik ist also im Aether nicht löslich.

2. Lecithin wurde im Wasser emulgiert, mit festem As_2O_3 und dem doppelten Volumen Aether versetzt und geschüttelt. Es entstand eine sehr gute Emulsion. Durch Zentrifugieren wurde sie in 4 Schichten geteilt:

Festes As_2O_3
wäßrige Schicht
Lecithin-Aetherschicht
Aetherschicht.

Die Aetherschicht wurde wie oben kolorimetrisch auf As untersucht: Befund negativ.

Die Lecithinschicht war dagegen As reich: As Gehalt = 1,05%.

3. Der As-Gehalt einer Emulsion, die durch Schütteln von As_2O_3 mit H_2O und Aether erhalten war, wurde kolorimetrisch bestimmt. 1 ccm Versuchslösung wurde mit 1 ccm 2 n H Cl erwärmt; (das Lecithin flockt aus) weiter mit einer 2% Gelatinelösung und 30 ccm gesättigte H_2S versetzt und auf 50 ccm aufgefüllt.

Ergebnis: Die Lösung enthält 1,85 mgr. As_2O_3 pro 1 ccm.

Während also alle Versuche eine erhebliche Lösungs-Affinität zwischen den organischen Stoffen, welche das Protoplasma aufbauen, negativ verliefen, war es umso aussichtsreicher das Verhalten des Arsens zu schwefelhaltigen Verbindungen zu untersuchen. Nachdem zuerst von amerikanischer Seite (C. Vögtlin, Public health reports *38*, S. 1882, 1923 und Journ. of pharmac. and exp. Therap. *23*, 55, 1924. H. A. Kuhn und A. S. Loewenhart. Journ. of pharmac. and exp. Therap. 28—30 XII., 1924) auf derartige Affinitäten hingewiesen wurde, sind dieselben auch in unserm Institut durch die Veröffentlichung von J. Markwalder bestätigt worden. In neuester Zeit hat auch Labes aus Bonn über ähnliche Erfahrungen auf der Düsseldorfer Naturforscherversammlung berichtet.

Wir untersuchen zunächst das Verhalten von Arsen zu Natriumthiosulfatlösung. Interessant ist, daß in Thiosulfatlösung die Löslichkeit des Arseniks erhöht ist; in gesättigter Thiosulfatlösung löst sich ca. doppelt soviel Arsenik wie in reinem Wasser.

Löslichkeit von As_2O_3 in $Na_2S_2O_3$.

10 ccm H_2O, 10 ccm gesättigte Thiosulfatlösung und 10 ccm ½ gesättigte Thiosulfatlösung wurden je mit 1 gr As_2O_3 versetzt, zweimal aufgekocht und 1½ Stunden im Schüttelapparat geschüttelt.

Die Proben wurden filtriert und in je 1 ccm Filtrat des As als Sulfid mit H_2S, nach Ansäuren mit H Cl, gefällt. Das As_2S_3 wurde in einem Filtriertiegel gesammelt und gewogen, nachdem es vorher bei 120 Grad getrocknet wurde. Bei den Thiosulfatproben wurde der Schwefel mit einer Lösung von $C S_2$ und Alkohol ausgewaschen.

Löslichkeit in:	100 ccm H_2O	2,322 gr As_2O_3
		2,371 gr As_2O_3
	100 ccm $Na_2S_2O_3$	4,444 gr As_2O_3
	100 ccm ½gesättigt $Na_2S_2O_3$	3,817 gr As_2O_3

In solchen Lösungen kann das Arsen bei geeigneter Konzentration mit dem Thiosulfat unter Sulfidbildung reagieren:

1. $As_2O_3 + 3\,Na_2S_2O_3 = 3\,Na_2SO_4 + As_2S_3$
2. $As_2S_3 + 3\,H_2O \rightleftarrows As_2O_3 + 3\,H_2S$

Das Gleichgewicht 2. ist in der Kälte nach links, in der Hitze nach rechts verschoben.

Interessant ist es, daß das dreiwertige Arsen eine viel größere Neigung zur Reaktion mit dem Schwefel zeigt, als das fünfwertige, wie aus folgenden Versuchsreihen hervorgeht:

Reihe 1.

Thiosulfat und Arsenige Säure.

1.	1 ccm	n/2	$Na_2S_2O_3$	+ 1 ccm	m/200	As_2O_3	Ausscheidung von	As_2S_3
2.	„	n/4	„	„	„	„	„	„
3.	„	n/8	„	„	„	„	„	
4.	„	n/16	„	„	„	„	„	„ + S
5.	„	n/32	„	„	„	„	„	„ + S

Reihe 2.

Thiosulfat und Arsensäure.

1.	1 ccm	n/2	$Na_2S_2O_3$	+ 1 ccm	m/200	As_2O_5	wenig As_2S_3 meist Schwefel
2.	„	n/4	„	„	„		Schwefel
3.	„	n/8	„	„	„		„
4.	„	n/16	„	„	„		„
5.	„	n/32	„	„	„		klar

nach ¾ Stunden gleicher Befund.

Infolge der starken Säurenatur von As_2O_5 erfährt in Reihe 2 das Thiosulfat die Säurezersetzung. Um diesen Faktor bei der Prüfung des Verhaltens von drei- und fünfwertigem As gegenüber Thiosulfat möglichst auszuschließen, wurde mit den Salzen der Arsenigen- und Arsen-Säure gearbeitet, und zwar mit dem primären beim As^{III}, dem Liquor Kali Arsenicosi (1% As_2O_3 und 1% K H CO_3, also ca. m/20 — As_2O_3 = 197,2 —) und mit dem sekundären beim As^{V}. Es wurde eine m/20 Lösung von Natrium arsenicicum Na_2H As O_4 + 7 H_2O verwendet.

Reihe 3.

Thiosulfat und K-Arsenit und HCl.

						Ausscheidung von As_2S_3 nach
1.	1 ccm	n/2	$Na_2S_2O_3$ + 1 ccm m/20 K-Arsenicos. + 0,1 ccm HCl			46″
2.	„	n/4	„	„	„	1,38″
3.	„	n/8	„	„	„	4,56″
4.	„	n/16	„	„	„	18
5.	„	n/32	„	„	„	1 h
6.	„	n/64	„	„	„	nach 4½ St. ++++
7.	„	n/128	„	„	„	„ +++
8.	„	n/256	„	„	„	„ ++
9.	„	n/512	„	„	„	„ +
10.	„	n/1024	„	„	„	„ 0

Die Reihe wurde 18 Stunden bei Brutschranktemperatur belassen. Nach dieser Zeit war Probe 10 noch ohne Niederschlag.

Reihe 4.

Thiosulfat und Na-Arsenat und HCl.

						Sulfid nach
1.	1 ccm	n/2	$Na_2S_2O_3$ u. 1 ccm m/20 Na-Arsenicic.	u.	0,1 ccm 2n HCl . .	54″
2.	„	n/4	„	„	„ . .	5′
3.	„	n/8	„	„	„ . .	klar
4.	„	n/16	„	„	„ . .	klar

Proben 3 und 4 sind auch nach 18 Stunden Brutschrankaufenthalt noch klar.

Reihe 5.

Thiosulfat und HCl. 19°

1.	1 ccm	n/2	$Na_2S_2O_3$ u. 1 ccm H_2O	u.	0,1 ccm 2n HCl	Schwefel nach 11″
2.	„	n/4	„	„	„	22″

3.	1 ccm	n/8 $Na_2S_2O_3$ u.	1 ccm H_2O u.	0,1 ccm 2n HCl	Schwefel nach 41″
4.	„	n/16 „	„	„	1,25″
5.	„	n/32 „	„	„	2,50″
6.	„	n/64 „	„	„	6,15″
7.	„	n/128 „	„	„	18′
8.	„	n/256 „	„	„	nach 1 Std. schwach S
9.	„	n/512 „	„	„	klar
10.	„	n/1024 „	„	„	klar

Die Grenze der Schwefelausscheidung liegt zwischen n/256 und n/512 Thiosulfat. Arsensäure vermag die Zersetzung des Thiosulfats in H_2S oder Schwefel stark zu hemmen, arsenige Säure dagegen nicht.

Reihe 6.

Thiosulfat K-Arsenit und HCl; abnehmender As-Gehalt.

1.	1 ccm	m/20	K-Arsenicos. u.	1 ccm n/10 $Na_2S_2O_3$ u.	2n 0,1 ccm HCl
2.	„	m/40	„	„	„
3.	„	m/80	„	„	„
4.	„	m/160	„	„	„
5.	„	m/320	„	„	„
6.	„	m/640	„	„	„
7.	„	m/1280	„	„	„
8.	„	m/2560	„	„	„
9.	„	m/5120	„	„	„
10.	„	m/10240	„	„	„
11.	„	m/20480	„	„	„
12.	„	m/40960	„	„	„

Die Proben 1—8 zeigen starke Verzögerung in der Niederschlagsbildung; 9—12 scheiden bald Schwefel aus. Viel später bildet sich in 1—8 As_2S_3.

Außer von Thiosulfat- und Arsen-Konzentration ist die Arsensulfidbildung weiter von der Wasserstoffionen-Konzentration abhängig. In 25% und 62% Thiosulfatlösungen wurde Arsenik in der Hitze bis zur Sättigung gelöst. Die 62% As-Thiosulfatlösung schied beim Erkalten etwas As_2S_3 aus. Die Lösungen wurden nach Filtrieren zu folgenden Reihenversuchen verwendet, in welchen das p_H-Gebiet, in denen aus der As-Thiosulfatverbindung As_2S_3 sich abspaltet, festgestellt werden soll.

Lösung 1: 25% Thiosulfat mit As_2O_3 gesättigt.
Lösung 2: 62% Thiosulfat mit As_2O_3 gesättigt.

Lösung 1.

1.	1 ccm	Phosphat	p_H 4,49	u. 10 Tr.	Lösung I erhitzt ⟶ As_2S_3
2.	„	„	5,90	„	„
3.	„	„	6,24	„	0
4.	„	„	6,47	„	0
5.	„	„	6,64	„	0
6.	„	„	6,81	„	0
7.	„	„	6,98	„	0
8.	„	„	7,17	„	0
9.	„	„	7,38	„	0
10.	„	„	7,73	„	0
11.	„	„	9,18	„	0

Lösung 2.

1.	1 ccm	id. I	p_H 4,49	u. 10 Tr.	Lösung II erhitzt ⟶ As_2S_3
2.	„	„	5,90	„	„
3.	„	„	6,24	„	„
4.	„	„	8,47	„	0
5.	„	„	6,64	„	0
6.	„	„	6,81	„	0
7.	„	„	6,98	„	0
8.	„	„	7,17	„	0
9.	„	„	7,38	„	0
10.	„	„	7,73	„	0
11.	„	„	9,18	„	0

Bei Zusatz von nur 1 Tropfen der As-Thiosulfatlösung II zu den Phosphatmischungen trat keine Sulfidbildung ein, auch nicht beim Erhitzen; bei 3 Tropfen positiv in 1, negativ in 2—11. Bei 10 Tropfen positiv in 1—3, bei 2 und besonders 3 starke Verzögerung: Induktionsvorgang. Auch bei dreitägigem Stehen im Brutschrank bei 39° ging die Sulfidbildung in der 62% Lösung nicht über p_H 6,24 und in der 25% Lösung nicht über p_H 5,90 hinaus.

Es geht ja auch die Arsensulfidbildung durch Schwefelwasserstoff nur innerhalb eines bestimmten p_H-Bereiches vor sich. Unter folgenden Konzentrationsverhältnissen konnte eine Reaktion mit Schwefelwasserstoff unter Sulfidbildung bis p_H gleich 7,38 benutzt werden.

1 ccm Phosphatlösung wurde mit einem Tropfen As_2O_3-Lösung (2,26%) und einem Tropfen gesättigtem Schwefelwasserstoff-Wasser versetzt.

1.	1 ccm	Phosph.	u. 1 Tr.	As_2O_3 u. 1 Tr. H_2S	in der Kälte schon As_2S_3
2.	„	4,49	„	„	„
3.	„	5,90	„	„	„
4.	„	6,24	„	„	„
5.	„	6,47	„	„	„
6.	„	6,64	„	„	„
7.	„	6,81	„	„	„
8.	„	6,98	„	„	„
9.	„	7,17	„	„	„
10.	„	7,38	„	„	„
11.	„	7,73	„	„	Schwach
12.	„	9,18	„	„	—

Beim Erhitzen geht die As_2S_3-Bildung wieder zurück von der alkalischen Seite aus bis p_H 6,64. Beim Erkalten bildet sich wieder As_2S_3, doch ist der Vorgang nicht vollständig reversibel. Nach nochmaligem Erhitzen ging die Sulfidbildung wieder zurück, kehrte aber bei den Proben 7,17 bis 7,73 nach dem Erkalten nicht wieder zurück, wohl wegen Entweichens von H_2S.

Wie zu Thiosulfat, so hat sich auch zum Schwefel der Thioessigsäure eine Affinität des Arsens nachweisen lassen, die sich ebenfalls durch Arsensulfidbildung dokumentierte. (Anwendung der Thioessigsäure in der chemischen Analyse an Stelle von Schwefelwasserstoff.)

Das Verhalten von drei- und fünfwertigem Arsen zu Thioessigsäure.

4 ccm Thioessigsäure wurde in verdünntem NH_3 gelöst (8 ccm konz. NH_3 und 13 ccm H_2O) auf 25 ccm.

Reihe I.

1.	1 ccm	Thios're.	u. 1 ccm m/20 K-Arsenicos.	sofort Fällung von As_2S_3
2.	„	1/2 verd.	„	sofort dichte weiße Trübung, die in gebl. Sulfid übergeht
3.	„	1/4 „	„	dito
4.	„	1/8 „	„	„
5.	„	1/16 „		Gelbfärbung nach 2′6″ schwache Trübung. Gelbfärbung nach 3′
6.	„	1/32 „	„	klare, schwachgelbe Lösung nach 24 Std. klar

Reihe II.

1.	1 ccm	Thios're u.	1 ccm m/20 Na-Arsenicic.	Sulfid sofort
2.	„	1/2 verd.	„	Sulfid nach 13″
3.	„	1/4 „	„	Sulfid nach 40″
4.	„	1/8 „	„	Sulfid nach 2′3″
5.	„	1/16 „	„	Sulfidtrübung nach 4′45″
6.	„	1/32 „	„	Schwefeltrübung
7.	„	1/64 „	„	klare, schwach gelbl. Lösung. Nach 1 Tag, ganz schwache Trübung
8.	„	1/128 „	„	klare Lösung

Vergleicht man Reihe I und II, so findet man in beiden die gleiche Sulfidfällungsgrenze zwischen dem 5. und 6. Röhrchen; doch ist die Niederschlagsbildung beim fünfwertigen As gegenüber dem dreiwertigen etwas verzögert. Auch ist nach dem Augenschein in den ersten beiden Proben beim dreiwertigen As etwas mehr Niederschlag gebildet, als beim fünfwertigen. Die folgenden Proben sind in der Quantität der Niederschläge ziemlich gleich. Die Trübung von Probe 6 und 7 in Reihe II besteht aus Schwefel.

Die hier verwendete Thioessigsäure reagierte noch sauer. Sie wurde zu den nächsten Versuchsreihen weiter mit NH_3 versetzt bis zur schwach alkalischen Reaktion. Die neue Lösung II von NH_4-Thioacetat enthielt 76,4 gr Thioessigsäure im Liter, war also ca. 1 n (M. G. 76,1).

Reihe III.

						Sulfidbildung
1.	1 ccm	1 n NH Thioacetat u.	1 ccm m/20 K-Arsenicos.	u.	1 Tr. 2n HCl	sofort
2.	„	1/2 verdünnt	„	„	„	„
3.	„	1/4 „	„	„	„	„
4.	„	1/8 „	„	„	„	„
5.	„	1/16 „	„	„	„	nach 30″
6.	„	1/32 „	„	„	„	schwach weiß gelbl. Trübung
7.	„	1/64 „	„	„	„	klar auch nach 24 Stunden

Reihe IV.

1.	1 ccm	1 n NH_4 Thioac. u.	1 ccm m/20 Na-Arsenicic.	u.	1 Tr. 2n HCl	klar auch nach 24 Stunden
2.	„	1/2n „	„	„	„	zuerst klar, Sulfidn. n. 24′18″
3.	„	1/4n „	„	„	„	dito
4.	„	1/8n „	„	„	„	Sulfid n. 7′30″

5.	1 ccm	1/16n	Thioac. u. 1 ccm m/20	Na-Arsenicic. u.	1 Tr. 2n HCl	weiße Trüb n. 20″ gelb n. 25′
6.	„	1/32n	„	„	„	schwach weiße Trüb. n. 25″, gelb n. 30′
7.	„	1/64n	„	„	„	schwach weiße Trüb. v. Schwef.
8.	„	1/128n	„	„	„	dito
9.	„	1/256n	„	„	„	„

Fügt man zu Probe 1 noch einen Tropfen 2n HCl, so scheidet sich bald auch As_2S_3 aus. (Die Arsensalze wurden in m/20-Lösung angewendet.) Das $KAsO_3$ reagierte alkalischer als das Na_2HAsO_4. 1 ccm KAs_2 und 10 Tropfen n/10 HCl gegen Methylrot noch alkalisch, dagegen Na_2HAsO_4 und 10 Tropfen n/10 HCl gegen Methylrot sauer. Trotzdem bleibt in Probe 1 von Reihe IV die Sulfidbildung aus.

Reihe V.

Wurde in gleicher Weise wie Reihe III und IV hergestellt, nur mit H_2O an Stelle der As-Lösung. Alle Proben blieben während 24 Stunden klar, obgleich überall sauere Reaktion herrschte.

Resultate: 1. Die Grenze der Sulfidbildung im alkalischen Gebiet liegt beim dreiwertigen As höher als beim fünfwertigen. Obgleich das Na_2HAsO_4 im Verhältnis zu $KAsO_2$ sauer ist, bildet es erst beim zweiten Gläschen, also in einem saureren Gebiet als $KAsO_2$ Sulfid.

2. Im sauern Gebiet fällt die Grenze der Sulfidbildung zusammen. Sie endigt bei As^{III} und As^{V} in dem 6. Röhrchen.

3. Die Menge des ausgeschiedenen Sulfids erscheint beim fünfwertigen As bei entsprechenden Proben gegen das dreiwertige As erniedrigt.

4. Fünfwertiges As zersetzt die Thioessigsäure weiter unter Schwefelausscheidung. (Schluß aus Reihe 4 und 5.)

Auch hier ergaben sich wieder Differenzen zwischen dem Verhalten von drei- und fünfwertigem Arsen in dem Sinne, daß das dreiwertige eine größere Affinität zu Sulfhydrylgruppe zeigt als das fünfwertige. Diese Beziehungen gehen besonders auch aus der Versuchsreihe 6 hervor.

Es wurden gleiche Mengen von Thioessigsäure (1 ccm n/4) K-Arsenicos. (1 ccm m/20) resp. Natrium Arsenicicum (1 ccm m/20) bei wechselndem p_H (1 ccm 0,4 Phosphatmischung) bei Zimmertemperatur zur Reaktion gebracht.

I.

	p_H	K-Arsenicosum		Na-Arsenicicum
1.	7,17	schwache gelbe Trübung	nach 30″	klar
2.	6,98	„	25″	„
3.	6,80	„	15″	„
4.	6,64	„	10″	„
5.	6,47	„	8″	„
6.	6,24	„	5″	„
7.	5,91	„	3″	„
8.	4,49	„	sofort	„

Obige Resultate stellen die Anfangsbefunde dar. Die Proben der Arsenigsäurereihe erfahren eine stetige Aenderung, die innerhalb der ersten 3—4 Stunden zur Ausflockung von As_2S_3 in abnehmender Menge von 8—1 führt. Die Probe I_2 hat ca. ein halb soviel As_2S_3 ausgeschieden wie I_8, I_1 zeigt nur schwachen Bodenkörper.

Von Reihe II blieben alle Proben innerhalb der ersten 3 Stunden klar. Später traten auch hier leichte Trübungen auf, bei II_8 nach 3½ Stunden, II_7 nach 4½ Stunden, II_6 nach 5½ Stunden. Nach 24 Stunden waren in Reihe II alle Proben durch As_2S_3 getrübt, Probe II_1 nur äußerst schwach. Zur starken Bodenkörperbildung war es in II_{5-9} gekommen; es kommt die Sulfidmenge von II_9 aber erst ungefähr der von I_2 gleich.

Es geht hieraus sehr deutlich hervor, daß das fünfwertige Arsen eine viel geringere Affinität zum Schwefel hat, als das dreiwertige.

Während in der Thioschwefelsäure und Thioessigsäure Verbindungen mit Sulfhydrylgruppen mit mittlerer Dissoziationsfähigkeit vorliegen, wurden im folgenden auch das Verhalten von Arsen zur Sulfhydrylgruppe von geringerer Dissoziation festgelegt, wie sie z. B. im Eiweiß vorkommen.

III. und V. Das Verhalten von As zu Thioglykolsäure.

1,74 ccm reine Thioglykolsäure (sp. Gew. 1,3523) wurde mit H_2O auf 25 ccm verdünnt = 1 n Lösung.

1. 1 ccm 1 n Thioglykolsäure und 1 ccm m/200 As_2O_3, klare farblose Lösung,
2. 1 ccm 1 n Thioglykolsäure und 1 ccm m/20 $KAsO_2$, klare farblose Lösung,

3. 1 ccm 1 n Thioglykolsäure und 1 ccm m/200 As_2O_5, klare farblose Lösung,
4. 1 ccm 1 n Thioglykolsäure und 1 ccm m/2 Na_2HAsO_4, klare farblose Lösung.

Die Proben zeigen auch nach viertägigem Stehen im Brutschrank keine Veränderungen im Aussehen. Es reagierte also hier das As mit der SH-Gruppe nicht unter Sulfidbildung, auch nicht beim Kochen oder beim Zusatz von HCl. Es reagierte aber doch mit SH, was aus folgendem Versuch hervorgeht:

Cystinprobe:

½ ccm Serum und 1 Tr. Pb. acet. und NaOH und 1 ccm K-arsenic. gekocht = Gelb-Färbung,

½ ccm Serum und 1 Tr. Pb. acet. und NaOH und H_2O gekocht = Schwarz-Färbung.

Auch bei Glutathionsäure kann die Reaktion zwischen dieser und Pb. durch As^{III}-Zusatz gehemmt werden.

1 ccm 1 n Glutathionsäure wird mit 1 ccm 1 n Pb-acetat und 2 n NaOH bis zur Auflösung des gelben Pb-Glutathionats (1 ccm 2 n NaOH) versetzt. Die Lösung wurde in drei gleiche Teile geteilt zu

a) 1 ccm m/20 $KAsO_2$ gekocht . . . . bleibt klar
b) 1 ccm H_2O gekocht. . . . . leichte PbS Trübung
c) 1 ccm m/20 Na_2HAsO_4 gekocht . . ganz leichte Pbs Trübung schwächer als bei b).

Wichtig ist, daß in einer alkalischen, mit Pb-acetat versetzten Serumeiweißlösung die PbS.-Fällung die nach den vorhergehenden Versuchen durch $KAsO_2$ gehemmt wird, durch das fünfwertige As keine Hemmung erfährt:

a) ½ ccm Serum + 1 Tr. Pb-acetat + NaOH + 1 ccm H_2O gekocht PbS-Bildung
b) ½ ccm Serum + 1 Tr-Pb-acetat + 1 ccm m/20 Na-Arsenicicum PbS-Bildung gleich stark wie a).

Das dreiwertige As besitzt also eine viel stärkere Affinität zur SH-Gruppe als das fünfwertige As. Diese Affinität äußert sich gegenüber der Thioschwefelsäure und Thioessigsäure darin, daß es sehr leicht zur Bildung von As_2S_3 kommt; gegenüber Thioglykolsäure, Cystin darin, daß lösliche, die SH-Gruppe blockierende Komplexe eingegangen werden.

Die Beziehungen des Arsens zur Sulfhydrylgruppe werden für die toxischen Wirkungen des dreiwertigen Arsens mitbestimmend sein, denn nach neuen Untersuchungen kommt gerade der SH-Gruppe bei Oxydationsreaktionen als Sauerstoffüberträger eine wichtige Rolle zu (Hopkins, Otto Meyerhof).

Sind die Restvalenzen der SH-Gruppe durch Komplexbildung mit As^{III} festgelegt, so scheint es wahrscheinlich, daß damit auch die wichtige Funktion der SH-Gruppe als O_2-Ueberträger erlischt.

Die Rolle als Oxydationskatalysator ist für Glutathion-Thioglykolsäure, Cystin an der Zelle dargetan worden. In gleicher Reihe hiemit stehen Beobachtungen, die an einem anorganischen System gemacht wurden (Eggert). Die Landolt'sche Reaktion wird durch geringe Mengen von Thiosulfatzusätzen katalytisch beschleunigt. Diese Angabe konnte durch eigene Versuche bestätigt werden. Es wurde weiter gefunden, daß auch Thioglykolsäure die Reaktion zu beschleunigen vermag, daß also offenbar die SH-Gruppe als Oxydationskatalysator fungiert. Durch Zusätze von Arsenik wird die Reaktion gehemmt, doch kann diese Hemmung nicht als direkter Beweis für eine Bindung der SH-Gruppe durch As^{III} angesehen werden, da Arsenik auch reduzierend auf das gebildete Jod einzuwirken vermag. Eggert fand bei der Zusammensetzung

5 ccm	Na_2SO_2	10^{-2} mol
10 ccm	KJ	„ „
15 ccm	HCl	„ „
35 ccm	$NaJO_3$	„ „
35 ccm	H_2O	

eine Reaktionszeit (R. Z.) von 67,6".

Ich fand bei folgendem System I eine R. Z. von 1'37", 1'35"

1.	1,25 ccm	m/100	Na_2SO_3
	8,75 „	„	KJO_3
	8,50 „	„	H_2O
	0,25 „		Stärke-Lösung
	3,75 „	„	HCl
	2,50 „	„	NaJ
	25,00 ccm		

Bei den folgenden Zusätzen zu diesem System wurde stets das Volumen von 25 ccm eingehalten.

2. Syst. I + 0,5 ccm norm. 10^{-3} $Na_2S_2O_3$ . . . . . R. Z. 4″
3. „ + 1 ccm m/200 As_2O_3 . . . . . „ 4′
4. „ + 0,5 ccm mol. 10^{-3} $Na_2S_2O_3$ + 2 ccm m/2000 As_2O_3 „ 4″
5. „ + 0,5 ccm mol. 10^{-3} $Na_2S_2O_3$ + 1 ccm m/200 As_2O_3 „ 3′6″
6. „ + 1 Tropfen 1 mol. Thioglykolsäure . . . . . „ sofort

Um einen etwaigen Einfluß der H-Ionen bei der Wirkung von Thioglykolsäure zu eliminieren, wurde die Wirkung des Salzes untersucht. 1 ccm 1 mol. Thioglykolsäure gegen Methylrot mit n/10 NaOH neutralisiert durch Zusatz von 12 ccm n/10 Lauge, mit H_2O auf 20 ccm aufgefüllt.

7. System I + 1 ccm Na-Thioglykolsäure m/20 R. Z. völlige Hemmung.

Um weiter eine Veränderung der H-Ionen-Konzentration durch das Na-Thioglykolat infolge Pufferwirkung auszuschließen, wurde in folgendem stets in einem Puffersystem von hinreichender Kapazität gearbeitet. Phosphatpuffer sind hiefür nicht verwendbar, da selbst bei Zusatz von saurem Phosphat (3,75 ccm 0,4 n) eine Hemmung von mehreren Stunden eintritt. Der obigen Anwendung von n/100 HCl (p_H 3,01) entsprechend, wurde eine Weinsäuretartrat-Pufferlösung mol./10 zuerst von p_H 2,96 dann von p_H 3 verwendet und zwar 3,75 ccm (∽ 3,75 HCl) System II mit mol./10 Weinsäure/Tartratpuffer p_H 2,96 und m/100 Na_2SO_3 (gemessen zu verschiedenen Zeiten mit 2. Teil neuer Lösungen).

1. R. Z. = 55″.

5 Std. nach der Herstellung der Sulfitlösung R. Z. = 45″.

Am andern Morgen reagierte das System stets sofort und zeigte die Reaktionszeit von 54″ erst wieder bei Verwendung von neuer Sulfitlösung.

2. System II + 0,5 ccm 10^{-3} mol. $Na_2S_2O_3$ . . . . . R. Z. 8″
3. „ + 0,5 ccm mol./20 Natrium Thioglyk. . „ 10″
4. „ + 0,5 ccm mol./200 Natrium Thioglyk. „ 15″
5. „ + 0,5 ccm m/20 $KAsO_2$ . . . . . völlige Hemmung
6. „ + 0,5 ccm m/20 $KAsO_2$
   + 0,5 ccm m/20 Na-Thioglyk. . . „

Man sieht, daß die Beschleunigung, welche die Landolt'sche Reaktion durch Zusätze von Thiosulfat erfährt durch Arsen gehemmt wird, doch ist dabei zu berücksichtigen, daß auch eine Reduktion von Jod vorliegen kann.

Literaturverzeichnis.

Autenrieth: Chem. u. physikal. Untersuchungsmethoden der Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie (Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden).
Bang: Biochem. Zeitschrift 1925, Bd. 161—162.
Brukel: Die Mikromaßanalyt. Bestimmungen des Arsens.
Engelson: Zeitschrift der physiolog. Chemie 111.
Heim: Inauguraldiss Erlangen 1880.
Kamm: Inauguraldiss. Basel 1924.
Kuhn und Löwenhart: Journ. of pharmac. and exp. Therap. 1924.
Lieb und Interstein: Mikrochemie Bd. II.
Přibyl: Ueber Bestimmungen von kleinsten Arsenmengen in Tierorganen (Biochem. Zeitschrift 1925).
Pregl: Quant. mikrochem. Analyse Mg-pyroarsenat.
Strebinger: Untersuchungsmethode nach Strebinger. Oester. chem. Zeitg. 1925, No. 8.
Treadwell: Elektroanalyt. Methoden 1925.
Vögtlin: Public health reports 1923, Journ. of pharmac. and exp. Therap. 1924.